

⑫ 公表特許公報 (A)

平5-503107

⑬ 公表 平成5年(1993)5月27日

⑭ Int. Cl.⁸

識別記号

庁内整理番号

審査請求 未請求

予備審査請求 未請求

部門 (区分) 3 (2)

A 61 K 49/00
C 07 D 257/02C 8415-4C
7019-4C

(全 13 頁)

⑮ 発明の名称 新規磁気共鳴造影剤

⑯ 特 願 平3-517858

⑰ 出 願 平3(1991)9月10日

⑱ 翻訳文提出日 平4(1992)5月13日

⑲ 国 際 出 願 PCT/US91/06531

⑳ 国際公開番号 WO92/04919

㉑ 国際公開日 平4(1992)4月2日

優先権主張 ㉒ 1990年9月13日 ㉓ 米国 (U S) ㉔ 581,861

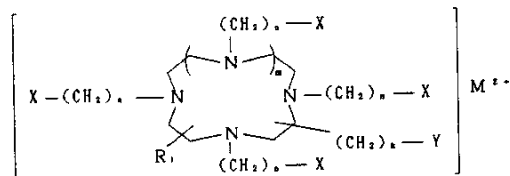
⑳ 発 明 者 ラジャゴバラシ, ラガヴァン アメリカ合衆国、63043 ミズーリ州、メリーランド・ハイツ、
ンソン・コート 1301㉑ 発 明 者 ヴァンデリッブ, ドナルド・ア アメリカ合衆国、63367 ミズーリ州、レイク・セント・ルイス、
ール オーベルニュ ナンバー 8㉒ 出 願 人 マリンクロッド・メディカル・ アメリカ合衆国、63134 ミズーリ州、セント・ルイス、マクダネ
インコーポレイテッド ル・ブルバード 675、ビーオーボックス 5840

㉓ 代 理 人 弁理士 田澤 博昭 外2名

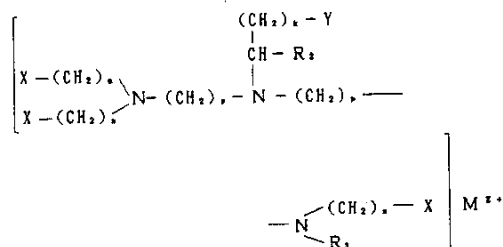
㉔ 指 定 国 A T (広域特許), A U, B E (広域特許), C A, C H (広域特許), D E (広域特許), D K (広域特許), E S (広域
特許), F R (広域特許), G B (広域特許), G R (広域特許), I T (広域特許), J P, L U (広域特許), N L (広
域特許), S E (広域特許)浄書(内容に変更なし)
請 求 の 範 囲

1. 原子番号21-29, 42-44, 58-70の常磁性金属イオン類と適切な錯化剤との両性イオン錯体類で、前記金属イオンおよび前記錯化剤によって供与されるプラスおよびマイナスの電荷の総数が等しいような両性イオン錯体類。

2. 下記の環状構造式1:



または、直鎖構造式2、



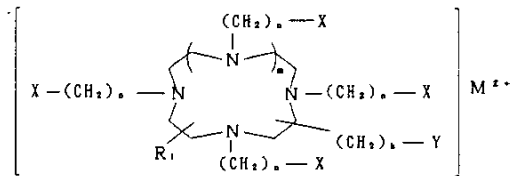
(式中、R₁ は、水素、アルキル、アシル、モノーまたはポリーヒドロキシルアルキル、モノーまたはポリーアル

コキシアルキル、およびアシルアミノアルキルからなる群から選択される; R₂ は、水素、アルキル、アシル、モノーまたはポリーヒドロキシルアルキル、モノーまたはポリーアルコキシアルキル、およびアシルアミノアルキルからなる群から選択される; R₃ は、R₁ と同一または異なっているもよく、または、-(CH₂)_n-X であることもできる; x は、カルボン酸、スルホン酸、ホスホン酸、リン酸、ハイドロゲンホスホネート、およびハイドロゲンホスフェートからなる群から選択される陰イオン基である; y は、アンモニウム、ホスホニウム、およびスルホニウムからなる群から選択される陽イオン基である; M^{z+} は、2+, 3+ または 4+ の原子価 z を有する元素の常磁性イオンである; n は、1 乃至 6 の範囲である; m は、0 乃至 2 の範囲である; k は、0 乃至 10 の範囲である; および p は、2 乃至 5 の範囲である) からなる両性イオン錯体。

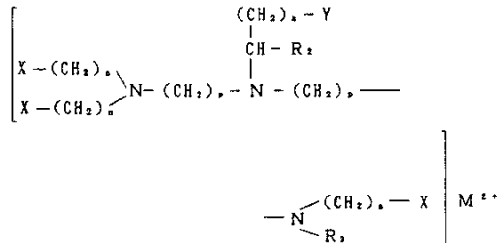
3. 前記常磁性イオンが、Gd³⁺, Dy³⁺, Fe³⁺, および Mn²⁺ であることを特徴とする請求の範囲第1項に記載の両性イオン錯体。

4. 前記常磁性イオンが、Gd³⁺, Dy³⁺, Fe³⁺, および Mn²⁺ であることを特徴とする請求の範囲第2項に記載の両性イオン錯体。

5. 原子番号21-29, 42-44, または58-70の常磁性イオン類の両性イオン錯体で環状構造式1:



または、直鎖構造式2、



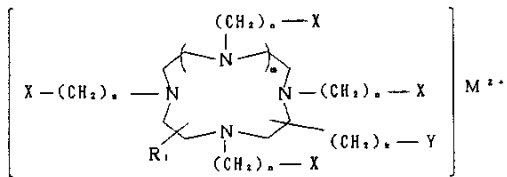
〔式中、R₁は、水素、アルキル、アシル、モノーまたはポリーヒドロキシルアルキル、モノーまたはポリーアルコキシルアルキル、およびアシルアミノアルキルからなる群から選択される；R₂は、水素、アルキル、アシル、モノーまたはポリーヒドロキシルアルキル、モノーまたはポリーアルコキシルアルキル、およびアシルアミノアルキルからなる群から選択される；R₃は、R₂と同一または異なってもよく、または、-(CH₂)_p-Xであることもできる；xは、カルボン酸、スルホン酸、ホスホン

酸、リン酸、ハイドロゲンホスホネート、およびハイドロゲンホスフェートからなる群から選択される陰イオン基である；yは、アンモニウム、ホスホニウム、およびスルホニウムからなる群から選択される陽イオン基である；M^{z+}は、2+、3+または4+の原子価zを有する元素の常磁性イオンである；nは、1乃至6の範囲である；mは、0乃至2の範囲である；kは、0乃至10の範囲である；およびpは、2乃至5の範囲である〕を有する両性イオン錯体のMRI有効量および製剤学的に許容可能な担体からなる温血動物への投与に適した診断用組成物。

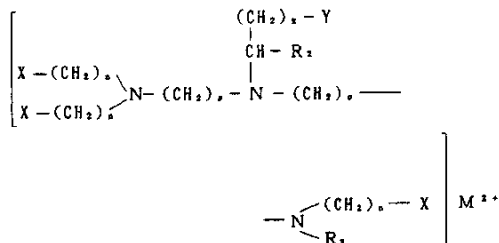
6. 前記常磁性イオンが、Gd³⁺、Dy³⁺、Fe³⁺、およびMn²⁺であることを特徴とする請求の範囲第5項に記載の診断用組成物。

7. 前記担体およびキレート化常磁性イオン類によって供与されるプラスおよびマイナスの電荷の総数が等しいことを特徴とする請求の範囲第5項に記載の温血動物への投与に適した診断用組成物。

8. 原子番号21-29、42-44、または58-70の常磁性イオン類の両性イオン錯体で環状構造式1、



または、直鎖構造式2、



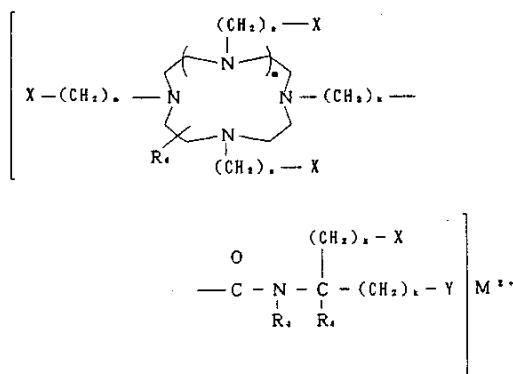
〔式中、R₁は、水素、アルキル、アシル、モノーまたはポリーヒドロキシルアルキル、モノーまたはポリーアルコキシルアルキル、およびアシルアミノアルキルからなる群から選択される；R₂は、水素、アルキル、アシル、モノーまたはポリーヒドロキシルアルキル、モノーまたはポリーアルコキシルアルキル、およびアシルアミノアルキルからなる群から選択される；R₃は、R₂と同一または異なってもよく、または、-(CH₂)_p-Xであることもできる；xは、カルボン酸、スルホン酸、ホスホン

酸、リン酸、ハイドロゲンホスホネート、およびハイドロゲンホスフェートからなる群から選択される陰イオン基である；yは、アンモニウム、ホスホニウム、およびスルホニウムからなる群から選択される陽イオン基である；M^{z+}は、2+、3+または4+の原子価zを有する元素の常磁性イオンである；nは、1乃至6の範囲である；mは、0乃至2の範囲である；kは、0乃至10の範囲である；およびpは、2乃至5の範囲である〕を有する両性イオン錯体のMRI有効量および製剤学的に許容可能な担体を温血動物へ投与すること、および次に前記動物をMRI手技に供すること、それによって少なくとも前記温血動物の1部分を造影することからなるMRI診断手技実施方法。

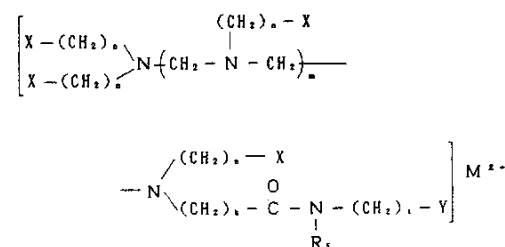
9. 前記常磁性イオンが、Gd³⁺、Dy³⁺、Fe³⁺、およびMn²⁺であることを特徴とする請求の範囲第8項に記載のMRI診断手技実施方法。

10. 前記担体およびキレート化常磁性イオン類によって供与されるプラスおよびマイナスの電荷の総数が等しいことを特徴とする請求の範囲第8項に記載のMRI診断手技実施方法。

11. 下記の環状構造式3：



または、直鎖構造式 4、

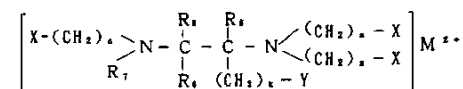


{式中、R₁基類は、同一または異なってもよく、水素、アルキル、アリル、アシル、モノーまたはポリーヒドロキシアシル、モノーまたはポリーアルコキシアシル、およびアシルアミノアルキルからなる群から選

{式中、R₂基類は、同一または異なってもよく、水素、アルキル、アリル、アシル、モノーまたはポリーヒドロキシアシル、モノーまたはポリーアルコキシアシル、およびアシルアミノアルキルからなる群から選
択される；xは、カルボン酸、スルホン酸、ホスホン酸、リン酸、ハイドロゲンホスホネート、およびハイドロゲンホスフェートからなる群から選
択される陰イオンである；yは、アンモニウム、ホスホニウム、およびスルホニウムからなる群から選
択される陽イオンである；nは、1乃至6の範囲である；kは、0乃至10の範囲である；
およびR₁は、水素、アルキル、アリル、アシル、ヒドロキシル、アルコキシル、モノーまたはポリーヒドロキ
シアシル、モノーまたはポリーアルコキシアシル、アシルアミノアルキル、および-(CH₂)-Xからなる群
から選
択される}からなる両性イオン錯体。

17. 前記常磁性イオンが、Gd³⁺、Dy³⁺、Fe³⁺、およびMn²⁺であることを特徴とする請求の範囲第16項に記載の両性イオン錯体。

18. 原子番号21-29、42-44、または58-70の常磁性イオン類の両性イオン錯体で開放鎖構造式5、

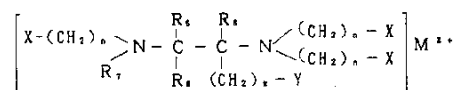


{式中、R₂基類は、同一または異なってもよく、

択される；R₁は、水素、アルキル、アリル、アシル、モノーまたはポリーヒドロキシアシル、モノーまたはポリーアルコキシアシル、およびアシルアミノアルキルからなる群から選
択される；xは、カルボン酸、スルホン酸、ホスホン酸、リン酸、ハイドロゲンホスホネート、およびハイドロゲンホスフェートからなる群から選
択される陰イオンである；yは、アンモニウム、ホスホニウム、およびスルホニウムからなる群から選
択される陽イオンである；M^{z+}は、2+、3+または4+の原子価zを有する元素の常磁性イオンである；nは、1乃至6の範囲である；mは、0乃至2の範囲である；kは、0乃至10である；およびtは、2乃至10の範囲である}
を有する両性イオン錯体のMRI有効量および製剤学的に許容可能な担体を温血動物へ投与すること、および次に前記動物をMRI手技に供すること、それによって少なくとも前記温血動物のI部分を造影することからなるMRI診断手技実施方法。

15. 前記常磁性イオンが、Gd³⁺、Dy³⁺、Fe³⁺、およびMn²⁺であることを特徴とする請求の範囲第14項に記載のMRI診断手技実施方法。

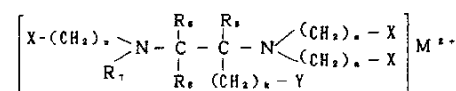
16. 下記の開放鎖構造式5、



水素、アルキル、アリル、アシル、モノーまたはポリーヒドロキシアシル、モノーまたはポリーアルコキシアシル、およびアシルアミノアルキルからなる群から選
択される；xは、カルボン酸、スルホン酸、ホスホン酸、リン酸、ハイドロゲンホスホネート、およびハイドロゲンホスフェートからなる群から選
択される陰イオンである；yは、アンモニウム、ホスホニウム、およびスルホニウムからなる群から選
択される陽イオンである；nは、1乃至6の範囲である；kは、0乃至10の範囲である；
およびR₁は、水素、アルキル、アリル、アシル、ヒドロキシル、アルコキシル、モノーまたはポリーヒドロキシアシル、モノーまたはポリーアルコキシアシル、アシルアミノアルキル、および-(CH₂)-Xからなる群
から選
択される}を有する両性イオン錯体のMRI有効量および製剤学的に許容可能な担体からなる温血動物への投与に適した診断用組成物。

19. 前記常磁性イオンが、Gd³⁺、Dy³⁺、Fe³⁺、およびMn²⁺であることを特徴とする請求の範囲第18項に記載の診断用組成物。

20. 原子番号21-29、42-44、または58-70の常磁性イオン類の両性イオン錯体で開放鎖構造式5、



発 明 の 背 景

本発明は、磁気共鳴映像(MRI)造影剤および、さらに詳細には、MRI増強のための方法および組成物類に関する。

最近開発されたMRI技術では、磁場およびラジオ周波数放射線を用い、ある原子核を検出することが含まれている。柔組織微細構造を極めて良好に分解し体器官解剖構造の断面ディスプレイを提供する点において、それは、いくつかの点では、X線コンピュータ断層撮影(CT)に類似している。作成されたイメージは、現在使用されているように、器官および組織におけるプロトン密度分布および/またはそれらの緩和時間のマップを構成する。MRI技術では電離放射線使用を回避しているので、非侵襲性であることが利点である。

MRI現象は1945年に発見されたが、Lauterburの最初の示唆(ネーチャー(Nature), 242, 190-191(1973))の結果、最近になって初めて体内内部構造のマッピング手段として応用されるようになった。使用される磁場およびラジオ周波数場に関連したいかなる公知の障害も基本的に欠如しているので感受性の個体に対して繰り返してスキャンすることができるようになっている。標準的スキャン平面に加えて(軸、冠状断および矢状断)、斜台

(式中、R、基類は、同一または異なってもよく、水素、アルキル、アリル、アシル、モノーまたはポリーヒドロキシアリル、モノーまたはポリーアルコキシアリル、およびアシルアミノアルキルからなる群から選択される；xは、カルボン酸、スルホン酸、ホスホン酸、リン酸、ハイドロゲンホスホネート、およびハイドロゲンホスフェートからなる群から選択される陰イオンである；yは、アンモニウム、ホスホニウム、およびスルホニウムからなる群から選択される陽イオンである；nは、1乃至6の範囲である；kは、0乃至10の範囲である；およびR_iは、水素、アルキル、アリル、アシル、ヒドロキシル、アルコキシル、モノーまたはポリーヒドロキシアリル、モノーまたはポリーアルコキシアリル、アシルアミノアルキル、および-(CH₂)_n-Xからなる群から選択される)を有する両性イオン錯体のMRI有効量および製剤学的に許容可能な担体を温血動物へ投与すること、および次に前記動物をMRI手技に供すること、それによって少なくとも前記温血動物のI部分を造影することからなるMRI診断手技実施方法。

21. 前記常磁性イオンが、Gd³⁺、Dy³⁺、Fe³⁺、およびMn²⁺であることを特徴とする請求の範囲第20項に記載のMRI診断手技実施方法。

平行スキャン平面も同様に選択できる。

MRI実験において、試料中の検射核(例 プロトン)を高度に均一な磁場において適当なラジオ周波数(RF)エネルギーで照射する。これらの核が緩和するに伴い、核はその後鮮鋭な共鳴周波数のRFを放出する。核の共鳴周波数は、かけた磁場に依存する。

公知の原理によれば、適切なスピンを有する核は、磁場をかけて(B、一般にガウス単位またはテラ(10⁴ガウス)単位で示される)配置されると、その磁場の方向に配列する。プロトンの場合、これらの核は1テラの磁場強度で42.6MHzのある周波数fで歳差運動を行う。この周波数では、放射線のRFパルスがこの核を励起し、磁場方向外部に正味の磁化を傾斜させると見なすことができ、この回転の度合いはパルス継続時間とエネルギーによって決定される。RFパルス後、核は“緩和し”すなわち、磁場と平衡に戻り、共鳴周波数の放射線を放出する。放出された放射線の崩壊は、2種の緩和時間、すなわち、外部からかけられた磁場方向と平衡に戻るまでに核が要した時間であるスピナー格子緩和時間すなわち縦緩和時間T₁と、それぞれのプロトンスピンの当初干渉性であった歳差運動の消失に関連したスピンスピン緩和時間T₂を特徴とする。こうした緩和時間は、異なる種の動物中において種々の体液、器官および組織について確立されている。

MRIにおいては、スキャン平面とスライス厚を選択できる。この選択によって、高品質の横断、冠状断および矢状断像が直接得られる。MRI設備に全く動作性の部分がないことで、高い信頼性が得られるようになる。CTではX線減衰係数単独で造影コントラストが決定されるのに対して、MRI信号には少なくとも5種の異なる変数(T₁、T₂、プロトン密度、パルスシーケンスおよびフロー)が関与することができるという事実と照らし合わせて、MRIは、組織特徴を選択的に調べるためにはCTよりも高い能力を有していると考えられている。たとえば、組織中のT₁およびT₂緩和値は新生物摘出組織試料中で宿主組織に比べて係数約2(2)だけ一般に長いことが示されている(Danadian, サイエンス(Science), 171, 1151(1971))。

MRIは、器官および/または組織間の微細な物理化学的差に対するその感受性の故に、異なる組織型を識別することができ、かつ、組織の電子密度差に対してのみ感受性であるX線またはCTによっては検出できない物理化学的变化を誘発する疾患を検出することができると確信されている。

上記にも述べたように、主なイメージングパラメータの2つが緩和時間T₁およびT₂である。プロトン(または他の適切な核)について、これらの緩和時間は、核の環境(例 粘度、温度等)によって影響を受ける。こ

これらの2種の緩和時間現象は、基本的に、最初に付与されたラジオ周波数エネルギーが周辺環境に伝達されるメカニズムである。このエネルギー消失すなわち緩和の速度は、常磁性である他の核によって影響を受けることができる。これらの常磁性核を取り込んだ化合物は、周辺プロトンの T_1 および T_2 値を実質的に変化させることができる。ある与えられた化合物の常磁性効果の程度は、それが存在する内部の環境の関数である。

一般に、原子番号21から29、42から44および58から70までの常磁性で2価または3価のイオン類は、MRI像コントラスト剤として有効であることがわかっている。このようなイオン類として適切なものとして、クロム(Ⅲ)、マンガン(Ⅱ)、マンガン(Ⅲ)、鉄(Ⅱ)、鉄(Ⅲ)、コバルト(Ⅱ)、ニッケル(Ⅱ)、銅(Ⅱ)、プラセオジミウム(Ⅲ)、ネオジミウム(Ⅲ)、サマリウム(Ⅲ)およびイットルビウム(Ⅲ)が挙げられる。それらの極めて強い磁気モーメントの故に、ガドリニウム(Ⅲ)、テルビウム(Ⅲ)、ジスプロシウム(Ⅲ)、ホルミウム(Ⅲ)およびエルビウム(Ⅲ)が好適である。ガドリニウム(Ⅲ)イオン類は、MRIコントラスト剤として特に好適である。

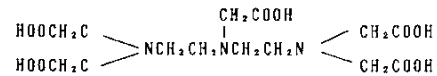
前記 2 価または 3 価の常磁性イオン類が、通常、有機錯化剤との錯体の形態で投与されている。このような錯体類は、前記の常磁性イオン類を可溶性、無毒の形態で

ることが見いだされた。

これらの錯体類は、生理的水性体液中で実質的に解離しない。DTPAとガドリニウム錯体は正味の電荷-2を有し、一方、EDTAおよびDOTAのガドリニウム錯体は正味の電荷-1を有しており、両者は、一般に可溶性塩として投与される。このような塩類として典型的なものは、ナトリウムおよびN-メチルグルカミン塩類である。このような塩類を投与することには、ある不利な点もある。これらの塩類はインビボ (in vivo) イオン濃度を上昇させ、そして浸透圧を局所的に乱し、それによって、次に、浮腫および他の望ましくない反応が起きることがある。

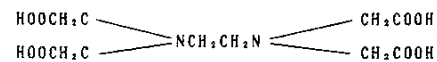
上記の不利益点を回避するかまたは最小とした新規イオン性かつ中性の常磁性金属イオン錯体類を設計するために、努力した。この目的は、一般に、錯化剤の1個以上の遊離カルボン酸基を中性のイオン化不可能な基に変換することによって達成された。たとえば、S. C. Quayは、米国特許第4,687,658号および4,687,659号において、DTPA錯体類のアルキルエステルおよびアルキルアミド誘導体類をそれぞれ開示している。同様に、公開されたDeanらの米国特許第4,826,673号は、DTPAのモノーおよびポリヒドロキシアリルアミド誘導体および常磁性イオン類の錯化剤としてのそれらの用途を開示している。また、それは、生成した金属錯体中のプラスおよび

提供し、かつ、造形手技後、体からのそれらの速やかな排泄を促進する。Griesら、米国特許第4,647,447号は、従来のアミノカルボン酸錯化剤との種々の常磁性イオン類との錯体類を開示している。Griesらが開示した好適な錯体は、ジエチレントリアミン五酢酸（“DTPA”）とのガドリニウム（Ⅲ）錯体である。この錯体は、式：

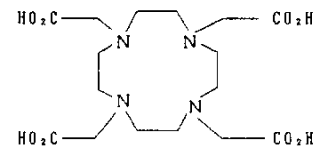


によって表すことができる。

ガドリニウム(Ⅲ)のような常磁性イオン類は、DT
PA、式：



によって表されるエチレンジアミン四酢酸(“EDTA”)、
および式：



によって表されるテトラアザシクロデカン-N, N', N'', N''' ("DOTA")と強固な錯体類を形成す

マイナス電荷の総計がゼロとなるように前記錯化剤に有機陽イオン類を共有結合で付着させることによって、達成できる。

前記錯化剤中における付加的置換基類の性質は、組織特異性に対して重要なインパクトを有することがある。親水性錯体類は間質液中中に濃縮される傾向があり、一方、親油性錯体類は細胞と会合する傾向がある。したがって、親水性の差によって、本化合物類のいろいろな応用が生ずることになる。たとえば、Weinmannら、AJR, 142, 679(1984年3月)およびBraschら、AJR, 142, 625(1984年3月)参照。

したがって、MRI造影剤として使用するため常磁性イオン類の新規かつ構造上多岐にわたるイオン性かつ中性の錯体類が引き続いて必要とされている。さらに、緩和性および浸透性に優れた高度に安定な錯体類を開発することが当該技術で必要とされている。

好 適 實 施 例

本発明によると、構造式 1-5 の化合物は磁気共鳴映像 (MRI) 剤としての使用に適すると考えられる。これらの製剤は下記の実施例で説明される多段階法によってつくられ、例えば心拍動記録法、冠動脈造影法、大動脈造影法、脳末梢血管造影法、関節造影法、静脈性腎盂造影法、及び尿路造影法などの種々の X 線造影法に用いられる。さらに本発明により、前述の本発明の組成物

を磁気共鳴映像剤として、薬物学的に容認される担体と共に含む医薬組成物がつくられる。

こうしてつくられた医薬組成物は、本発明の化合物の有効量及び薬物学的に容認される担体及びこの方法に適した賦形剤を、温血動物に経口的又は非経口的に投与し、その後その温血動物でMRI法を行い、それによってその温血動物の体の少なくとも一部を画像化することから成るMRI診断法実施法に用いられる。このような溶液は、薬物学的に容認される緩衝剤及び、任意に、塩化ナトリウムのような電解質も含むことができる。好都合なことに、この組成物はさらに生理的に容認される無毒性カチオンをグルコン酸塩、塩化物又はその他の適切な有機-又は無機塩-キレート／リガンドとの適切な溶解性錯化合物を含む一の形で含むことによって、安全性を高めることができる。このような生理的に容認される無毒性カチオンとしてはカルシウムイオン、マグネシウムイオン、銅イオン、亜鉛イオンなどがあり、それらの混合物も含まれる。カルシウムイオンが好適である。

薬物学的に容認される担体としては、注射に適したもの、例えばトリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（及びその塩）、ホスフェート、クエン酸塩、重炭酸塩などの緩衝水溶液、注射用滅菌水、生理的食塩水、及び正常血漿カチオン、Ca、Na、K、Mgなどの塩化物及び／又は重炭酸塩を含む平衡イオン溶液がある。その他

合物/kg患者体重の範囲である。

本発明の新規のMRI造影剤は所望の特徴をもつ特異な組み合わせをもっている。化合物は生理的液に高い溶解性を示す。この高い溶解性は濃溶液の調製を可能にし、それによって、投与必要量を少なくすることができる。化合物の双性イオン特性もこの診断用組成物の浸透性を低下させ、それによって不都合な浮腫及びその他の副作用を阻止する。

本発明の診断用組成物は一般的方法で用いられる。適性な可視化を得るのに十分な量の組成物を温血動物に全身的に投与するか、画像化すべき器官又は組織に局所的に投与し、それからその動物を適切なMRI機械で走査する。本発明の双性イオン化合物は、動物生体内にこの化合物が約2ないし3時間留まるように投与される；ただし通常はこれより短い、及びこれより長い滞留時間が容認される。組成物はこれらの方法によって得られる磁気共鳴映像を高めることが判明した。

本発明は、制限的でない下記の実施例によってさらに詳細に説明される。

实施例 I

アミノペンチル-EDTA (6) の製法

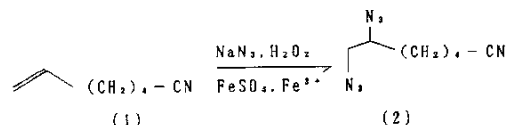
A. 5, 6-ジアジド-1-シアノヘキサン(2)の製
法

の緩衝溶液でレミントン (Remington) 著、"調剤の実務 (Practice of Pharmacy)" 第11版、例えば、170ページに記載されている。担体は、キレート剤、例えば少量のエチレンジアミン四酢酸、カルシウムナトリウム塩、又はその他の薬物学的に容認されるキレート剤を含むことができる。

非経口的組成物は直接注射してもよいし、多量の非経口的組成物と混ぜて全身投与することもできる。

経口投与のための処方、当業者には公知のように種々様々である。概してこのような処方は、有効量の常磁性イオン錯化合物を水溶液又は懸濁液の形で含む液体である。このような経口的組成物は、任意に緩衝剤、表面活性剤、チキソトロブ剤などを含む。経口投与のための組成物は芳香剤及び、器官感覚受容性を高めるためのその他の成分を含むこともできる。

この診断用組成物は、磁気共鳴映像を所望通り高めるための有効量が投与される。このような量は、使用する特殊な双性イオン化合物によって、映像法を受ける器官又は組織、使用するMRI装置などによって広く変動する。概して、非経口投与量は双性イオン化合物約0.01ないし約1.0mmol/kg患者体重の範囲である。好適非経口投与量は双性イオン化合物0.05ないし約0.5mmol/kg患者体重の範囲である。経口投与量は概して約0.5ないし約100mmol、より好適には約1.0ないし約20mmol双性イオン化



固体 NaN_3 (0.8 g、0.12 mol) を水 30 ml に溶解し、1 リットル三頸コルベンに入れ、それから希釈の目的で CH_3OH 40 ml を加えた。希釈した溶液を氷浴中に置き、0 °C に冷やした。

その後その希釈した溶液に生の 6-シアノー-1-ヘキセン(4.36 g, 0.04 mol)を加え、それから $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (0.8 g, 0.002 mol)を加えた。混合物を再び 0℃に冷やした。

固体 FeSO_4 (24 g, 0.08 mol) を水 75 ml に溶解し、別のポートに入れた。水冷した H_2O_2 (30%) も別の付加的ポートに入れて冷保存した。

希釈した溶液に、 FeSO_4 溶液約 5 ml 部分を加え、その間溶液の温度を約 0℃ に保ちながらその過酸化物を滴下した。 FeSO_4 溶液及び過酸化物の添加が完了した後、反応混合物を約 15 分間攪拌した。その結果、TLC によって出発材料の完全な消失が証明された。

その後反応混合物を水200mlで希釈し、 CH_2Cl_2 100ml
部分で4回抽出した。

有機層を水で洗い、乾燥し、蒸発すると、5、6-ジ
アジド-1-シアノヘキサンが得られた。(5.3 g; 収率

68%) ; これはできるだけ直ぐに用いられた、というのはジアジドは一晩放置すると発色するからである。
 B. 6, 7 ジアミノヘプタンニトリル (3) の製法

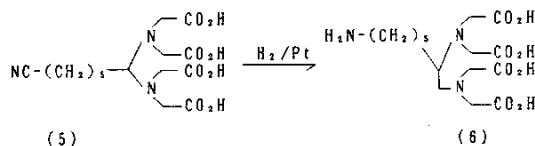


CH₃OH(50ml)中、5, 6-ジアジド-1-シアノヘキサン(5.2g, 0.026mol)の溶液をリンドラー触媒(7g)上で30ポンド(13.5kg)の圧力で、約12時間水素化した。溶液をセライトを通して濾過し、新鮮なリンドラー触媒4gを加えた。それからその溶液を30ポンドの圧力で約12時間水素化した。溶媒を蒸発させ、残留物を減圧で100-110℃で(Krugelrohr)蒸留すると、6, 7-ジアミノヘプタンニトリルが無色油として得られた(2g, 収率48%)。IRは、-CN基の損失がないことを示した。

C. 6, 7-[N, N, N', N'-テトラカルボキシメチルアミノ]ヘプタンニトリル (5) の製法

ル(100ml)で処理した。沈殿物をブフナーロートを通して濾過し、乾燥し、無色固体(m.p. 275-280℃)2gを得た(収率50%)。核磁気共鳴(NMR)スペクトル及び元素分析共に、構造と一致した。

D. アオノベンチル-EDTA (6) の製法



固体6, 7-[N, N, N', N'-テトラカルボキシメチルアミノ]ヘプタンニトリル(1.5g, 4×10⁻³mol)をCH₂CO₂Hに溶解し、3気圧(45psi(3.16kg/cm²))で24時間水素化した。

その溶液からPtO₂触媒(400mg)を濾別し、濾液を蒸発乾固した。

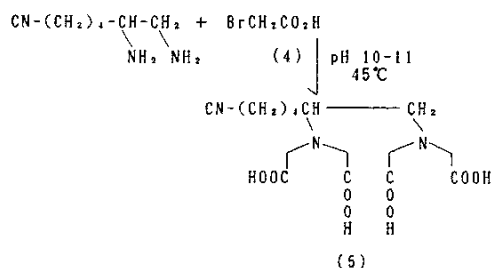
粗物質をイオン交換樹脂(BIO-RAD-ホルメート型, AGI×8, 200-400メッシュ)によって精製すると、純化合物610mgが得られた。

実施例 II

アミノベンチル-EDTAのガドリニウム錯化合物 (7) の製法

水(5ml)中リガンド(0.5g)と酸化ガドリニウム(0.22g)の混合物を65-70℃に20時間加熱した。IN

特表平5-503107 (8)



水11ml中ブロム酢酸(5.9g, 0.0423mol)の溶液に、NaOH溶液(H₂O 17ml中3.4g)を加えて、pHを約7又は7.5に調節した。

それから生の6, 7-ジアミノヘプタンニトリル(1.41g, 0.01mol)を一度に加え、混合物を45℃に加熱した。上記のように調製したNaOH溶液でpHを10と11の間に保持した。

pHは約3時間で安定し始めた。上記のように調製した残るNaOH溶液を混合物に加え、室温(25℃)で2時間攪拌した。

濾液を蒸発乾固し、残留物を水20mlとメタノール100mlに溶解した。

その溶液をBIO-RADイオン交換樹脂(ホルメート型)で処理し、臭化物イオンを除去した。

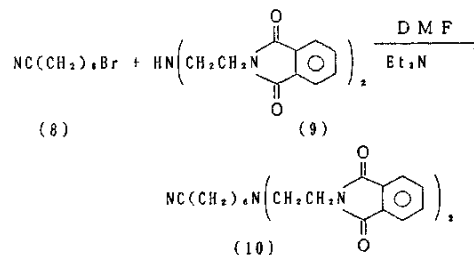
その溶液を濾過及び蒸発した後、残留物を熱メタノー

NaOHでpHを7.0に調節し、淡黄色溶液をチャコール(1g)で処理し、濾過した。濾液をゆっくりと蒸発させると白色固体が得られた。

実施例 III

[(7-アミノヘプチル)イミノ]ビスエチレンニトリロ 四酢酸 (14) の製法

A. (6-シアノヘキシル)ビス(2-フタリミドエチル)アミノ (10) の製法

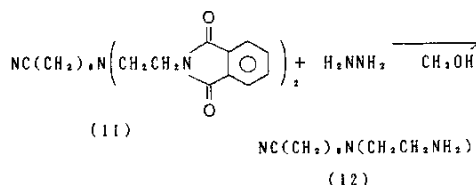


DMF(120ml)中、6-ブロモヘキシルシアナイド(1)(13.88g, 0.073mol)、ビス(2-フタリミドエチル)アミン(2)(26.52g, 0.073mol)、及びトリエチルアミン(7.37g, 0.073mol)の混合物を100℃で20時間加熱した。冷却後、生成した沈殿を濾過して除去し、濾液を水(1000ml)中に注いだ。水溶液をジクロロメタン(3×200ml)で抽出し、合一した有機エキスをブラインで洗い、Na₂SO₄上で乾燥した。減圧下で溶媒を除去すると、粗生

成物 (10) が得られた：これをシリカゲル上でフラッシュクロマトグラフィーにかけた（ヘキサン-30%酢酸エチル/ヘキサン勾配溶出）。不純フラクションを再クロマトグラフィーにかけると、(10) が合計14.1g (41%)、油として得られた。

生成物はTLCで単一のスポットであることが証明され、IR及びNMRスペクトルは指定された構造 (10) と一致した。

B. (6-シアノヘキシル) ビス (2-アミノエチル) アミン (12) の製法



アミン (3) (13.8g, 0.029mol) 及びヒドラジン (2.15g, 0.067mol) のメタノール (150ml) 溶液を1.5時間還流し、一晩放置した。減圧下で溶媒を除去し、残留物を水 (200ml) に取り、HClでpH2にした。

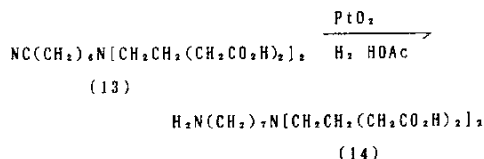
沈殿を濾過して除去し、濾液を固体NaOHで塩基性にする。溶液を減圧下で濃縮し、ジクロロメタンで抽出した (4×50ml)。

合一した有機抽出液をNa₂SO₄上で乾燥し、減圧下で蒸

酸)、合計4.3g (55%) の四酸 (5) が得られた。

生成物はTLC上に単一のスポットして証明された (エタノール、7% aq NH₃ 4:1、-シリカプレート)。カーボンNMRスペクトル (c-176) は指定された構造 (5) と一致した。

D. (((7-アミノヘプチル) イミノ) ビス (エチレンニトリロ)) 四酢酸 (6) の製法

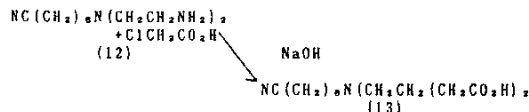


ニトリル (5) (0.85g, 0.0019mol) の酢酸 (50ml) 溶液を酸化白金 (0.15g) で処理し、45psi (3.16kg/cm²) で一晩水素化した。

それからセライトを通して濾過することによって触媒を除去し、フィルターパッドを水で洗った。

溶媒を減圧下で除去すると粗生成物が得られ、それをBio-Rad Ag 1×8イオン交換樹脂ホルメート型でクロマトグラフィーにかけた。水で溶出すると純粋な (6) が得られた (0.70g, 82%)。生成物はTLC上で単一のスポットとしてあらわれた。プロトン及びカーボンNMRスペクトルは構造 (6) と一致した。

発させた。残留物をKugelrohr 蒸留すると純粋な (4) が、0.07mmHgにおいて120-140℃ (ポット温度) の間で集まる無色透明な液体 (4.1g, 67%) として得られた。IR及びNMRスペクトルは指定された構造と一致した。
C. (((6-シアノヘキシル) イミノ) -ビス (エチレンニトリロ)) -四酢酸 (5) の製法



クロル酢酸 (7.0g, 0.074mol) の水 (20ml) 溶液を必要量の水酸化ナトリウム (5.92g, 0.148mol) 水 (30ml) 溶液の添加によって中和した。

ジアミン (4) (3.72g, 0.0175mol) を加え、溶液を45℃で7時間加熱した。この時間中、残るNaOH溶液の添加によって溶液のpHを10-11の間に保持した。

室温で2日間攪拌後、濃HClを加えてpHを7にし、減圧下で溶媒を除去した。残留物を熱メタノール (300ml) に取り、濾過した。

減圧下でメタノールを除去すると、粗四酸 (5) が得られた。この物質を2グラム バッチで、Bio-Rad Ag 1×8イオン交換樹脂ホルメート型の2×30cmカラムでクロマトグラフィーにかけると (勾配溶出、0-1M 塩

実施例 IV

A. 1- (6-アミノ-6-カルボキシヘキシル) カルバモイル-メチル-1, 4, 7, 10-テトラアザ-4, 7, 10-トリス (カルボキシメチル) -シクロデカン (15) の製法

DOTA (15) のリジン誘導体を、Biochem. Biophys. Res. Commun. 1977, 77, 581に記載の Krejcarck及びTuckerの方法をわずかに変えた方法を用いて合成した。

一般的合成としては、遊離酸型DOTA (0.17g, 0.29g) 及びトリエチルアミン (1.15mmol) の混合物 (澄明液) を室温に冷し、イソブチルクロロホルメート (0.29mmol) を滴下し、その後過剰量 (2.97mmol) の6-アミノ-2- (N-ベンジルオキシカルボキシル) アミノカブロン酸を加えた。

カルボベンジルオキシ基 (CBZ) を触媒的水素化によって除去する。

生成した混合物を30分間攪拌し、それから濾過する。存在するDMSOを減圧下で留去する。

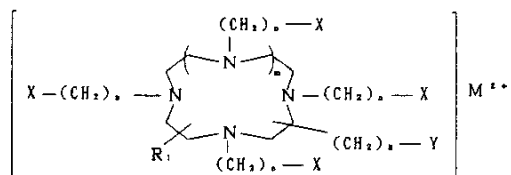
上記を考慮すれば、本発明のいくつかの目的は達せられる。

上記化合物及び方法には、本発明の範囲を逸脱することなく種々の変更を加えることができるから、上記説明に含まれる又は添付の図に示される事柄はすべて例証的であって、制限的ではないことは当然である。

要 約

本発明は、新規錯化剤および常磁性イオン類と錯化剤の錯体類を提供する。結果として生成した金属錯体類は正味の電荷ゼロを有し、“両性イオン錯体類”といわれる。この両性イオン錯体類は、好適には、適切な錯化剤と原子番号21-29, 42-44, 58-70の常磁性金属イオン類であり、前記金属イオンおよび前記錯化剤によって供与されたプラスおよびマイナスの電荷の総数が等しいようになっている。このような錯体類は、下記の式によって示すことができる。

環状構造を有する両性イオン錯体は、式1:

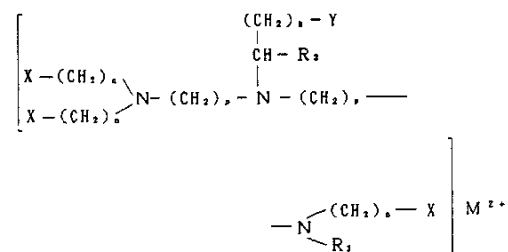


式1

〔式中、R₁は、水素、たとえばメチルまたはエチル（親油性を低下させるためにメチルが好適である）のようなアルキル、たとえばフェニルのようなアリル、たとえばアセチルのようなアシル、たとえばヒドロキシメチルまたはジヒドロキシプロピル（水溶性を増加させるためジヒドロキシプロピルが好適である）のようなモノ-

またはポリ-ヒドロキシアルキル、たとえばメトキシエチルまたはジメトキシメチル（親油性を低下させるためにジメトキシメチルが好適である）のようなモノ-またはポリ-アルコキシアルキル、および、たとえばアセチルアミノメチルまたはプロプリオニル（propionyl）アミノメチルのようなアシルアミノアルキルからなる群から選択される；nは、1乃至6の範囲であるが、最も好適には1である；mは、0乃至2の範囲であるが、最も好適には0または1である；kは、0乃至10の範囲であるが最も好適には1である；M^{z+}は、2+, 3+または4+の原子価zを有する元素の常磁性イオンである；xは、カルボン酸、スルホン酸、ホスホン酸、リン酸、ハイドロゲンホスホネート、およびハイドロゲンホスフェートからなる群から選択される陰イオン基である；およびyは、アンモニウム、ホスホニウム、およびスルホニウムからなる群から選択される陽イオン基である〕によって例示される。x, yおよびzの上記に規定されたそれぞれの電荷は、常磁性金属錯体中におけるそれらの総電荷量が常にゼロであるように選択される。たとえば、もし前記の常磁性金属がガドリニウムであり、xがカルボン酸陰イオンであり、yがアンモニウム陽イオンであれば、その場合、前記両性イオン錯体は、z = 3+, (4) x = -4, y = 1+を有し、正味の全体の電荷はゼロとなるであろう。

開放鎖構造を有する別の両性イオン錯体は式2:



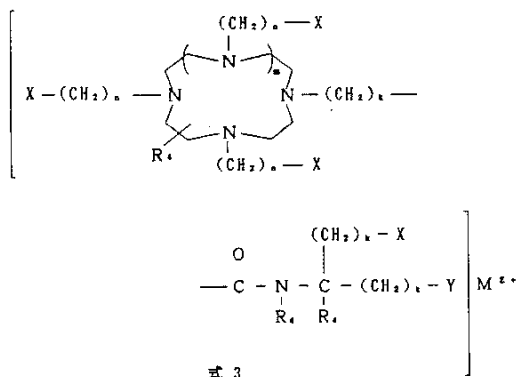
式2

〔式中、R₂は、水素、たとえばメチルまたはエチル（親油性を低下させるためにメチルが好適である）のようなアルキル、たとえばフェニルのようなアリル、たとえばアセチルのようなアシル、たとえばヒドロキシメチルまたはジヒドロキシプロピル（水溶性を増加させるためジヒドロキシプロピルが好適である）のようなモノ-またはポリ-ヒドロキシアルキル、たとえばメトキシエチルまたはジメトキシメチル（親油性を低下させるためにジメトキシメチルが好適である）のようなモノ-またはポリ-アルコキシアルキル、およびたとえばアセチルアミノメチルまたはプロプリオニル（propionyl）アミノメチルのようなアシルアミノアルキルからなる群から選択される；xは、上記の式1に記載と同様である；yは、上記の式1に記載と同様である。；nは、上記の式1に記載と同様である；およびp群類は、同一または異なっ

ていてもよく、2乃至5の範囲であるが、最も好適には2である；R₃は、水素、たとえばメチルまたはエチル（親油性を低下させるためにメチルが好適である）のようなアルキル、たとえばフェニルのようなアリル、たとえばアセチルのようなアシル、たとえばヒドロキシメチルまたはジヒドロキシプロピル（水溶性を増加させるためジヒドロキシプロピルが好適である）のようなモノ-またはポリ-ヒドロキシアルキル、たとえばメトキシエチルまたはジメトキシメチル（親油性を低下させるためにジメトキシメチルが好適である）のようなモノ-またはポリ-アルコキシアルキル、および、たとえばアセチルアミノメチルまたはプロプリオニル（propionyl）アミノメチルのようなアシルアミノアルキル、および-(CH₂)_k-Xからなる群から、前記常磁性イオンの原子価により選択される；およびkは、上記の式1に記載と同様であるが、最も好適には0である；およびM^{z+}は、上記の式1に記載のような原子価zを有する元素の常磁性イオンである〕に例示される。式2におけるx, yおよびzの原子価は、常磁性金属錯体中におけるそれらの総電荷量が常にゼロであるように同様に選択される。たとえば、もし前記の常磁性金属がガドリニウムであり、xはカルボン酸陰イオンであり、yがアンモニウム陽イオンであれば、その場合、式2由来前記両性イオン錯体は、z = 3+, (4) x = -4, y = 1+を有し、正味

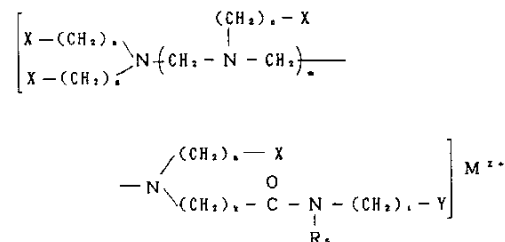
の全体の電荷はゼロとなるであろう。もし前記金属イオンがマンガンであれば、 $z = 2 +$, $(3) x = -3$, $y = 1 +$ を有し、正味の全体の電荷はゼロとなるであろう。

本発明のその他の両性イオン錯体類は、下記の環状構造式 3 :



[式中、 R_4 基類は、同一または異なっているもよく、水素、たとえばメチルまたはエチル（親油性を低下させるためにメチルが好適である）のようなアルキル、たとえばフェニルのようなアリル、たとえばアセチルのようなアシル、たとえばヒドロキシメチルまたはジヒドロキシプロピル（水溶性を増加させるためジヒドロキシプロピルが好適である）のようなモノーまたはポリーヒドロ

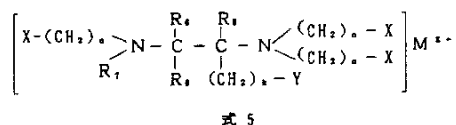
キシアルキル、たとえばメトキシエチルまたはジメトキシメチル（親油性を低下させるためにジメトキシメチルが好適である）のようなモノーまたはポリーアルコキシアルキル、および、たとえばアセチルアミノメチルまたはプロプリオニル（propionyl）アミノメチルのようなアシルアミノアルキルからなる群から選択される；および x , y , z , n , m および k は、それぞれ、上記の式 1 に記載と同様である] によって、および開放鎖構造式 4 :



[式中、 R_4 は、水素、たとえばメチルまたはエチル（親油性を低下させるためにメチルが好適である）のようなアルキル、たとえばフェニルのようなアリル、たとえばアセチルのようなアシル、たとえばヒドロキシメチルまたはジヒドロキシプロピル（水溶性を増加させるためジヒドロキシプロピルが好適である）のようなモノーま

たはポリーヒドロキシアルキル、たとえばメトキシエチルまたはジメトキシメチル（親油性を低下させるためにジメトキシメチルが好適である）のようなモノーまたはポリーアルコキシアルキル、および、たとえばアセチルアミノメチルまたはプロプリオニル（propionyl）アミノメチルのようなアシルアミノアルキルからなる群から選択される；および x , y , z , n , m および k は、それぞれ、上記の式 1 に記載と同様である；および t は、2 乃至 10 の範囲にある；その際、 k および t は同一または異なっているもよいが、好適には k は 1 でありかつ t は 2 である] によって、示される。

本発明のもうひとつの両性イオン錯体は、下記の開放鎖式 5 :



[式中、 R_4 基類は、同一または異なっているもよく、水素、たとえばメチルまたはエチル（親油性を低下させるためにメチルが好適である）のようなアルキル、たとえばフェニルのようなアリル、たとえばアセチルのようなアシル、たとえばヒドロキシメチルまたはジヒドロキシプロピル（水溶性を増加させるためジヒドロキシプロピルが好適である）のようなモノーまたはポリーヒドロ

キシアルキル、たとえばメトキシエチルまたはジメトキシメチル（親油性を低下させるためにジメトキシメチルが好適である）のようなモノーまたはポリーアルコキシアルキル、および、たとえばアセチルアミノメチルまたはプロプリオニル（propionyl）アミノメチルのようなアシルアミノアルキルからなる群から選択される； x , y , z , n および k は、それぞれ、上記の式 1 に記載と同様である；および R_4 は、水素、たとえばメチルまたはエチル（親油性を低下させるためにメチルが好適である）のようなアルキル、たとえばフェニルのようなアリル、たとえばアセチルのようなアシル、ヒドロキシ、たとえばメトキシまたはエトキシのようなアルコキシル、たとえばヒドロキシメチルまたはジヒドロキシプロピル（水溶性を増加させるためジヒドロキシプロピルが好適である）のようなモノーまたはポリーヒドロキシアルキル、たとえばメトキシエチルまたはジメトキシメチル（親油性を低下させるためにジメトキシメチルが好適である）のようなモノーまたはポリーアルコキシアルキル、たとえばアセチルアミノメチルまたはプロプリオニル（propionyl）アミノメチルのようなアシルアミノアルキル、および $-(CH_2)_n-X$ からなる群から選択される] によって示される。

上記の 5 つの全式中において、好適な化合物類は、置換アルキル、アルコキシル、アリル、アシル、モノーま

5.2.-9
平成 年 月 日

特許庁長官殿

1. 事件の表示 特願平3-517858号
PCT/US91/065312. 発明の名称
新規磁気共鳴造影剤3. 補正をする者
事件との関係 特許出願人
名称 マリンクロッド・メディカル・
インコーポレイテッド4. 代理人 郵便番号 105
住所 東京都港区西新橋1丁目4番10号
第3森ビル3階
氏名(6647) 井理士 田澤 博 昭
電話 03(3591)5095 番

5. 補正命令の日付 平成 5年 2月 2日

6. 補正の対象
(1) 明細書及び請求の範囲の翻訳文
(2) 要約の翻訳文
7. 補正の内容
(1) 明細書及び請求の範囲の翻訳文の浄書
(内容に変更なし)
(2) 要約の翻訳文の浄書 (内容に変更なし)

以上



国際調査報告

International Application No. PCT/US 91/06531

1. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If national classification number exists, indicate all)		
Int.Cl.5 A 61 K 49/00 C 07 D 255/02 C 07 C 229/16 C 07 D 257/02 C 07 D 259/00		
2. FIELDS SEARCHED		
Mistaken Documentations Searched?		
Classification System	Classification Symbol	
Int.Cl.5	A 61 K C 07 C C 07 D	
Documents Searched other than Mistaken Documentations as the Entries for such Documents are included in the Fields Searched?		
3. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ¹		
Category ²	Criteria of Documents ¹² with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹³	Relevance to Claim No. ¹⁴
X	WO,A,8602005 (NEW SALUTAR, INC.) 10 April 1986, see claims (cited in the application)	1,3 2,4-21
A	---	---
X	WO,A,8602841 (NEW SALUTAR, INC.) 22 May 1986, see claims; figures 1-3 (cited in the application)	1,3 2,4-21
A	---	---
A	US,A,4707453 (WAGNER et al.) 17 November 1987, see column 3, line 8 - column 4, line 7; column 6, line 45 - column 7, line 11	1-27 1,3
X	---	---
<p>¹ Special categories of cited documents: 10 ¹¹ "A" documents defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance ¹² "X" documents which may have been cited as prior art in the application or which is cited to establish the publication date of certain claims or other relevant reasons (as specified) ¹³ "C" documents referring to an oral disclosure, use, exhibition or other events ¹⁴ "P" documents published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>¹⁵ "A" documents published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to substantiate the principle or theory underlying the invention ¹⁶ "X" documents of particular relevance, the claimed invention appears to be derived from or related to documents in the prior art ¹⁷ "C" documents of particular relevance, the claimed invention appears to be related to or derived from documents in the prior art ¹⁸ "P" documents published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search		Date of Mailing of the International Search Report
20-01-1992		17 FEB 1992
International Searching Authority EUROPEAN PATENT OFFICE		Signature of Authorised Officer Mine N. KUIPER

Form PCT/ISA/200 Second sheet (January 1988)

International Application No. PCT/US 91/06531		
3. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)		
Category ²	Criteria of Documents ¹² with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹³	Relevance to Claim No. ¹⁴
A	EP,A,0325762 (BRACCO INDUSTRIA CHIMICA) 2 August 1989, see claims	2,4-21
P,X	EP,A,0325762	1,3
P,A	WO,A,9012598 (MALLINCKRODT, INC.) 1 November 1990, see page 5, line 29 - page 9, line 37; claims 1-23	2,4-21 1,3
P,X	---	---
P,A	WO,A,9103261 (MALLINCKRODT, INC.) 21 March 1991, see page 5, line 28 - page 6, line 12; claims	2,4-21
X	EP,A,0255471 (SCHERING AG) 3 February 1988, see examples 3,7; claims	1,3 2,4-21
A	---	---
X	WO,A,9001024 (MALLINCKRODT, INC.) 8 February 1990, see page 8, lines 14-28; claims	1,3 2,4-21
A	---	---

Form PCT/ISA/200 Second sheet (January 1988)

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM THE SECOND SHEET

V. ☒ **OBSERVATION WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNSEARCHABLE** ¹

The International search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ **Claim numbers:** because they relate to subject matter not reported to be searched by this Authority, namely:

Remark: Although claims 8-10, 14, 15, 20 and 21 are directed to a diagnostic method practised on the human/animal body the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

2. ☒ **Claim numbers:** Z, 4-21 (incompletely) because they relate to parts of the international application that do not comply with the procedural requirements in such an extent that an independent international search can be carried out, specifically:

It is not sufficiently clear from the general formulae of the type given in claim 2 and subsequent claims, exactly what compounds are being sought to be protected. The search was therefore directed to the compounds given in the examples of the application. See PCT Article 6.

3. ☐ **Claim numbers:** because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the unified and fixed standards of PCT Rule 6.4(a)

VI. ☐ **OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING** ²

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application as follows:

1. ☐ As no required additional search has been timely paid by the applicant, this international search report covers all identifiable claims of the international application.

2. ☐ As only some of the required additional search has been timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims of the international application for which time was paid, specifically claims:

3. ☐ No required additional search has been timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims, it is identified by claim numbers:

4. ☐ As all substantive claims could be satisfied without effect justifying an additional fee, the International Searching Authority did not deem payment of any additional fee.

Remark on Protest:

☐ The additional search has been accelerated by applicant's protest.

☐ No protest accelerated the payment of additional search fee.

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as registered in the European Patent Office EDP file as on 11/02/91. The European Patent Office is to be held liable for those particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent (and) inventors	Publication date
WO-A- 8602005	10-04-86	US-A- 4687658 DE-T- 3590496 EP-A- 0200750 GB-A,B 2177086 JP-T- 62501288 US-A- 4859451	18-08-87 19-02-87 12-11-86 14-01-87 21-05-87 22-08-89
WO-A- 8602841	22-05-86	US-A- 4687659 DE-T- 3590578 EP-A,B 0203962 GB-A,B 2181428 JP-T- 62501412 US-A- 4859451	18-08-87 29-01-87 10-12-86 23-04-87 11-06-87 22-08-89
US-A- 4707453	17-11-87	None	
EP-A- 0325762	02-08-89	AU-A- 2904789 WO-A- 8905802 EP-A- 0440606 JP-T- 3501848	19-07-89 29-06-89 14-08-91 25-04-91
WO-A- 9012598	01-11-90	AU-A- 5535090	16-11-90
WO-A- 9103261	21-03-91	US-A- 5011925 AU-A- 5535190	30-04-91 08-04-91
EP-A- 0255471	03-02-88	DE-A- 3625417 AU-B- 604249 AU-A- 7621787 JP-A- 63041468	11-02-88 13-12-90 04-02-88 22-02-88
WO-A- 9001024	08-02-90	AU-A- 3988589 EP-A- 0425571	19-02-90 08-05-91

PCT/ISA/210

For more details about this annex, see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82.